

3-6 相関領域研究系

相関分子科学第一研究部門

渡 辺 芳 人 (教授)

A-1) 専門領域：生物有機化学、生物無機化学

A-2) 研究課題：

- a) 高原子価状態にあるヘム酵素および鉄ポルフィリン錯体による基質酸化の分子機構
- b) 人工ヘム酵素の分子設計
- c) 非ヘム酸化酵素のモデル系構築および不安定酸化活性種のキャラクタリゼーション
- d) 水溶液中での金属 - ハイドライド錯体の合成と基質還元反応の開拓

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 酸化反応に関与するヘム酵素の代表であるシトクロームP450と同じように光学選択的に基質酸化反応を行う人工ヘム酵素の系統的な作成を行った。基本的なコンセプトは、酸素貯蔵機能を有するヘム蛋白であるミオグロビンをヘム酵素一般の基本骨格として用い、必要な部位特異的アミノ酸置換により標的酵素機能発現を目指すというものである。高い光学選択性の発現機構を現在検討中である。
- b) トリプトファンの4電子酸化によりキノトリプトファン合成を行う酵素は、遺伝子のシーケンスからヘム酵素ではないかと指摘されているが、その実体は不明のままである。そこで、ミオグロビンのヘム近傍にトリプトファンを導入したミュータントを作成し、キノトリプトファンへの変換の可能性を検討した。その結果、化学量論的にトリプトファンをキノトリプトファンへと変換することに成功した。この結果は、同時に、酸化酵素へと変換したミオグロビンミュータントが芳香環の酸化という高い反応活性を有していることを明らかにした初めての例である。
- c) ヘム酵素と同じ機能をヘム以外の鉄や銅錯体を利用して行う酵素を非ヘム酵素と呼ぶ。本研究では、非ヘム酵素の活性中心モデルの構築を行い、酸素分子活性化機構解明を目的とした研究を行っている。今年度は、カテコールジオキシゲナーゼモデル錯体の合成を行い、イントラジオール型と呼ばれるカテコール分解反応を選択的に行う反応系の構築に成功した。
- d) 水溶液中で種々の化学反応を触媒的に進行させることは、環境調和型のプロセスとして重要と考えられる。本研究では、水溶液中で安定な金属 - ハイドライド錯体の合成と、有機化合物のハイドライド還元への展開を目指した研究を行っている。現在、pH<4条件下でカルボニル化合物やハロゲン化合物のハイドライド還元成功している。

B-1) 学術論文

M.P. ROACH, S. OZAKI and Y. WATANABE, "Investigations of the Myoglobin Cavity Mutant H93G with Unnatural Imidazole Proximal Ligands as a Modular Peroxide O–O Bond Cleavage Model System," *Biochemistry* **39**, 1446 (2000).

R. YAMAHARA, S. OGO, Y. WATANABE, T. FUNABIKI, K. JITSUKAWA, H. MASUDA and H. EINAGA, "(Catecholato)iron(III) Complexes with Tetradentate Tripodal Ligands Containing Substituted Phenol and Pyridine Units as

Structural and Functional Model Complexes for the Catechol-Bound Intermediate of Intradiol-Cleaving Catechol Dioxygenases,” *Inorg. Chim. Acta* **300-302**, 589 (2000)

H. HAYASHI, S. FUJINAMI, S. OTAKE, S. NAGATOMO, S. OGO, M. SUZUKI, A. UEHARA, Y. WATANABE and T. KITAGAWA, “A Bis(μ -oxo)dicopper(II) Complex with Sterically Hindered Aromatic Nitrogen Donors: Structural Characterization, Reversible Conversion, and Reactivity,” *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 2124 (2000)

K. SHIREN, S. OGO, S. FUJINAMI, H. HAYASHI, M. SUZUKI, A. UEHARA, Y. WATANABE and Y. MORO-OKA, “Synthesis, Structures, and Properties of Bis(μ -oxo)nickel(III) and Bis(μ -superoxo)nickel(II) Complexes: An Unusual Conversion of a Ni(III)₂(μ -O)₂ Core into a Ni(II)₂(μ -OO)₂ Core by H₂O₂ and Oxygenation of Ligand,” *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 254 (2000).

M.P. ROACH, W.J. PUSPITA and Y. WATANABE, “Proximal Ligand Control of Heme Iron Coordination Structure and Reactivity with Hydrogen Peroxide: Investigations of the Myoglobin Cavity Mutant H93G with Unnatural Oxygen Donor Proximal Ligands,” *J. Inorg. Biochem.* **81**, 173 (2000).

H. OHTSU, S. ITOH, S. NAGATOMO, T. KITAGAWA, S. OGO, Y. WATANABE and S. FUKUZUMI, “Characterization of Imidazolate-Bridged Cu(II)–Zn(II) Heterodinuclear and Cu(II)–Cu(II) Homodinuclear Hydroperoxo Complexes as Reaction Intermediate Models of Cu, Zn-SOD,” *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1051 (2000).

B-3) 総説、著書

S. OZAKI, T. MATSUI, M.P. ROACH and Y. WATANABE, “Rational Molecular Design of a Catalytic Site: Engineering of Catalytic Function to the Myoglobin Active Site Framework,” *Coord. Chem. Rev.* **198**, 39 (2000).

Y. WATANABE and H. FUJII, “Characterization of High-Valent Oxo-Metalloporphyrins,” in *Structure and Bonding*, B. Meunier, Ed., Springer Verlag; Berlin, pp. 62-89 (2000).

渡辺芳人, 「人工ヘム酵素の分子設計」, *Electrochemistry* **68**, 996-1001 (2000).

B-4) 招待講演

渡辺芳人, 「ヘム酵素における高原子価酸化活性種生成の分子機構解明」, 日本化学会第78春季年会, 千葉, 2000年3月.

渡辺芳人, 「反応機構に基づく人工ヘム酵素の設計」, 大阪大学蛋白質研究所セミナー, 大阪, 2000年7月.

渡辺芳人, 「手作りの酵素は上手く働くか?」, 第15回「大学と科学」公開シンポジウム, 東京, 2000年10月.

渡辺芳人, 「人工ヘム酵素の設計」, 筑波大学化学系セミナー, つくば, 2000年12月.

Y. WATANABE, “Asymmetric Oxidation Catalyzed by Myoglobin Mutants,” Hungarian Academy of Sciences Seminar, Budapest (Hungary), May 2000.

Y. WATANABE, “Preparation, Characterization, and Reactions of Myoglobin Compound I,” *Komplekékémiai Kollokvium*, Keszmetét (Hungary), May 2000.

Y. WATANABE, “Molecular Design of Myoglobin Mutants as Protein Models for Peroxidase, Catalase and P450,” First International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines, Dijon (France), June 2000.

Y. WATANABE, “Rational Molecular Design of a Catalytic Site: Engineering of Catalytic Functions to the Myoglobin Active Site Framework,” International Symposium on Advances in Bioinorganic Chemistry, Mumbai (India), November 2000.

Y. WATANABE, “Myoglobin Compound I: Preparation and Its Use as a Monooxygenase,” The Third International Conference on Oxygenases, Kyoto, November 2000.

Y. WATANABE, “Asymmetric oxidation Catalyzed by Myoglobin Mutants,” The 2000 International Chemical Congress of Pacific basin Societies, Hawaii (U. S. A.), December 2000.

Y. WATANABE, “Preparation, Characterization, and Reactions of Myoglobin Compound I,” The 2000 International Chemical Congress of Pacific basin Societies, Hawaii (U. S. A.), December 2000.

B-5) 受賞、表彰

渡辺芳人, 日本化学会学術賞(2000).

B-6) 学会および社会的活動

学協会役員、委員

触媒学会生体関連触媒研究会幹事(1988-).

基礎生物工学会幹事(1994-).

日本化学会生体機能関連化学部会幹事(1997-).

日本化学会東海支部常任幹事(1999-).

学会の組織委員

第二回 International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines組織委員 (2000-).

文部省、学術振興会等の役員等

日本学術振興会特別研究員等審査会専門委員 (1999-).

学会誌編集委員

Journal of Inorganic Biochemistry, Editorial Board (1997-).

European Journal of Inorganic Chemistry, International Advisory Board (2000-).

B-7) 他大学での講義、客員

名古屋大学大学院工学研究科, 「ヘムタンパク質の化学」, 2000年7月12, 13日.

名古屋大学工学部, 総合科目, 2000年12月11日.

筑波大学化学系, 「生物無機化学」, 2000年12月4, 5日

C) 研究活動の課題と展望

酸化反応を触媒するヘム酵素の反応機構に関する基礎研究から、活性中心を構成するアミノ酸の役割を分子レベルで明らかにしてきた。こうした研究成果に基づいて、人工的なヘム酵素の構築を現在目指している。具体的には、ミオグロビンを人工酵素構築のためのビルディングブロックとして利用し、酵素活性発現に必要なアミノ酸を適切に配置することによって、目的とするヘム酵素を合成する試みを行っている。現時点では、高い光学選択性を有する一原子酸素添加酵素の構築に成功しているが、反応の多様性、非天然型補欠分子族導入による生体系にはない化学反応を触媒する人工酵素への展開を現在の目標としている。一方、非ヘム酸化酵素の分子レベルでの機構解明のためのモデル系による研究では、ヘムと非ヘム酵素の本質的な差異と生体における酸素活性化戦略の総合的な解明を行いたい。水溶液中での新たな反応の開拓

は、今後ますます重要な化学反応系として展開したい分野であり、現在、カルボニルのアルコールへのハイドライド還元を達成している。本系はpHが4以下のような強酸性条件下でも反応を進行させることが可能であり、現在硝酸還元などデヒドロゲナーゼ様活性の付与を検討している。